M. TERQUEM
BOOKSELLER
AMSTERDAM SCRIBE
NEW YORK 17 BEAVER ST

LES DIASTASES

OXYDANTES ET RÉDUCTRICES

DES

CHAMPIGNONS

PAR LE

DOCTEUR PIERRE SÉE

Lauréat de la Faculté de Médecine,
Lauréat de l'Académie de Médecine.

Prix : 2 francs

PARIS
FÉLIX ALCAN, ÉDITEUR
108, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 108

—

1910

LES DIASTASES

OXYDANTES ET RÉDUCTRICES

DES

CHAMPIGNONS

DU MÊME AUTEUR :

Contribution à l'étude des applications thérapeutiques des Oxydases et des Métaux-Ferments. — 1 volume, 520 pages, Doin 1905.

Les Oxydases : Leur rôle physiologique et leurs applications thérapeutiques. — *Archives Générales de Médecine*, nos 29 et 30 (17-24 juillet 1906).

De l'emploi thérapeutique des Oxydases et des Métaux en solution colloïdale. — *Bulletin général de Thérapeutique*, 15 août 1906, page 197.

Les Oxydases et les Eaux minérales. — *Gazette des Eaux*, no 2496, 3 janvier 1907.

LES DIASTASES

OXYDANTES ET RÉDUCTRICES

DES

CHAMPIGNONS

PAR LE

DOCTEUR PIERRE SÉE

Lauréat de la Faculté de Médecine,
Lauréat de l'Académie de Médecine.

Prix : 2 francs

PARIS
FÉLIX ALCAN, ÉDITEUR
108, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 108

—

1910

120189
12/1/12

UNIVERSITY OF TORONTO LIBRARY

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DES

DIASTASES OXYDANTES ET RÉDUCTRICES

DES

CHAMPIGNONS

Par Pierre SÉE

I. — HISTORIQUE

I. — Travaux antérieurs a la découverte des ferments oxydants.

Les chimistes et les botanistes avaient constaté depuis longtemps les changements de coloration variés que subissent certains champignons, coupés ou écrasés. Ces colorations n'acquièrent qu'au bout d'un certain temps leur maximum d'intensité.

Schoenbein (1) donna, le premier, une explication scientifique de ces phénomènes. Il admit l'existence (2), dans le *Boletus luridus* Schæff., d'un corps capable de transformer l'oxygène atmosphérique en ozone (3) et de déterminer ainsi l'oxydation d'un chromogène particulier.

Ce chimiste constata, en outre, que le suc du *Boletus luridus* Schæff. et celui de l'*Agaricus sanguineus* (ou *Russula sanguinea*) :

(1) Schœnbein. — Ueber Ozon und Ozonwirkung in Pilzen. *Philosophical Magazine*, XI, n° 70, p. 137, d'après un résumé de *Journ. f. praktische Chem.*, LXVII, p. 496, 1856.

(2) Schœnbein. — Ueber die Selbstblauung einizer Pilze und Vorkommen von Sauerstofferregern und Sauerstofftragern in der Pflanzenwelt. *Verhandlungen der Naturforschenden Ges. zu Basel*, p. 339, 1856. Travail sur le *Boletus luridus*.)

(3) D'après Bourquelot et Bertrand. — *Soc. Mycol. de France*, 1896.

1° Bleuissent directement la teinture de gaïac, devenue depuis un réactif de choix pour déceler la présence des oxydases ;

2° Décomposent l'eau oxygénée dont la destruction catalytique, on le sait aujourd'hui, caractérise une oxydase indirecte ou une catalase ;

3° Perdent définitivement ces deux propriétés à l'ébullition, fait qui démontre la nature diastasique des réactions ;

4° Colorent, par oxydation, l'aniline. Cette propriété fut reconnue plus tard par le Pr Em. Bourquelot dans d'autres espèces mycologiques.

Les travaux de Schœnbein, malgré leur valeur, n'eurent pas le retentissement qu'ils méritaient. Aussi, l'étude de la coloration des champignons fut-elle négligée pendant plusieurs années. Elle n'a été reprise qu'en 1872 par Phipson (1). Il soutint, opinion courante d'ailleurs a cette époque, que le pigment bleu est une couleur d'aniline, mais les travaux de Ludwig (2) et ceux de Cugini établirent que le chromogène de divers bolets bleuissants n'est pas l'aniline ou une combinaison cyanique, mais un principe spécial.

L'auteur italien (3) observa, de plus, que la formation du pigment bleu, activée par l'ammoniaque en faible quantité, est, au contraire, empêchée par cet alcali à fortes doses.

Enfin, en 1890, Zopf, dans un important travail (4), décela, dans les champignons vivants, des chromogènes qui diffèrent suivant les espèces et se transforment en pigments variés. La gamme des colorations (bleu foncé, bleu pâle, violet verdâtre, vert, rouge, violet, jaune soufre, gris, rouge puis noir) permit à Zopf d'établir un classement physiologique de ces cryptogames.

(1) Phipson. — On the oxydation blue of *Boletus cyanescens*, *B. luridus*, etc., and on a similar product derived from phenol. Sur le bleu d'oxydation du *Boletus cyanescens*, du *B. luridus*, etc., et les produits similaires dérivés du phénol. *The Chemical News*, n° 657, t. XXV, p. 301, 1872.

(2) Ludwig. — Ueber das Chromogen des *Boletus cyanescens* und anderer auf frischem Bruche blau werdenden Pilze. Sur le chromogène du *Boletus cyanescens* et d'autres champignons bleuissant lorsqu'on les brise. *Archives de Pharmacie*, t. CXLIX, p. 107, 1872.

(3) Cugini. — Berliner Berichte, vol. X, p. 1099, d'après *Gazzetta chimica*.

(4) Zopf. — Die Pilze. Un vol. 1890, p. 162.

II. — Les ferments oxydants dans les champignons.

Les véritables travaux sur les oxydases ne remontent qu'à 1895, année des premières communications de MM. Em. Bourquelot et G. Bertrand.

La découverte récente et l'étude du ferment oxydant de la laque par Hikorokuro Yoshida (1), au Japon, et G. Bertrand, en France, l'existence de cette diastase dans certains phanérogames, firent naître chez les deux savants français l'idée de rechercher le ferment dans les champignons. Ils le trouvèrent (2) dans un grand nombre d'espèces (*Russula fœtens*, *R. cyanoxantha* Schaeff. et *R. furcata Lam.*) et l'assimilèrent, en raison de ses réactions (coloration bleue avec le gaïac, brune avec le laccol, brun foncé avec l'acide gallique, production de purpurogalline avec le pyrogallol, formation de quinone et de quinhydrone avec l'hydroquinone), à la seule oxydase connue à cette époque : la laccase. Ils constatèrent de plus que le ferment, également répandu dans toutes les parties (pied, chapeau, lames, etc.) de ces champignons, est, au contraire, pour d'autres espèces, localisé dans certaines portions du végétal. C'est ainsi que le ferment n'existe qu'à la partie centrale du pied dans le *Lactarius Piperatus* Scop. (ou agaric poivré) et à la base de cet organe dans le *Phallus impudicus*. Divers champignons, enfin, ne renferment pas de diastases oxydantes.

Ces remarquables recherches furent, quelques mois plus tard, corroborées par les travaux des étrangers. MM. Hans et Astrid Euler (3), notamment, ont trouvé, dans les tissus du *Boletus Scaber*, l'oxygénase, déjà observée en 1896 par MM. Bourquelot et Bertrand (4), et qui donne, au contact du gaïac, une coloration bleu foncé.

(1) Hikorokuro Yoshida. — Chemistry of Lacquer. *Journ. of the Chemical Society*, XLIII, p. 472, 1883.

(2) Em. Bouquelot et G. Bertrand. — La laccase dans les champignons. *Soc. de Biologie*, p. 579, 1895. Les ferments oxydants dans les champignons. *Soc. Mycol. de France*, 28 septembre 1895.

(3) Hans et Astrid Euler. — Enzimologische Notizien. *Arch. für Kemie*, pp. 365-369; 9/11 1904. *Res. Chemisch. Centr. bl.*, I, p. 1107, 1906.

(4) Bourquelot et Bertrand. — Les ferments oxydants dans les champignons. *Soc. Mycol. de France*, t. XII, 1er fasc., p. 18, 1896.

Bach a de même constaté (1), comme l'avait déjà fait le Pr Bourquelot (2), la présence, dans le *Russula nigricans* et le *Psalliota campestris*, d'un ferment qui oxyde les phénols et l'hydroquinone.

J. H. Kastle (de Washington), enfin (3), a extrait du *Lepiota americana* une oxydase très stable. Elle supporte, en effet, pendant plusieurs semaines le contact de l'alcool à 50° renfermant 1 0/0 de formaldéhyde, et résiste aux températures élevées. (Il faut, pour la détruire, chauffer pendant une heure à 80°, dix minutes à 85° ou cinq minutes à 90°.) Le ferment agit sur le gaïac, le gaïacol, la phénolphtaline, l'éthylphénolphtaline et l'aloïne.

III. — Pluralité des ferments oxydants contenus dans les champignons.

Les champignons, cependant, ne renferment pas une oxydase unique. Leur suc, comme l'ont reconnu, dès 1895, MM. Bourquelot et Bertrand (4) présente des propriétés que ne possède pas la laccase. Le suc de *Russula nigricans*, en particulier, n'est pas modifié sous l'influence de la diastase de la laque ; il noircit, au contraire, sous l'action du suc incolore et inaltérable d'un champignon riche en ferment oxydant. On peut donc, avec M. Bourquelot, conclure de ces faits (5) « que le ferment oxydant des champignons qui amène le noircissement du chromogène du *Russula nigricans*, diffère de la laccase ».

(1) Bach. — Peroxydasen als specifische wirkende Enzymen. *Ber. d. D. chem. Ges.*, t. XXXIX, p. 2126.

(2) Bourquelot. — Action du ferment soluble oxydant des champignons sur les phénols insolubles dans l'eau. *Ac. Sc.*, t. CXXII, p. 423, 1896 et *Journ. Ph. et Ch.*, t. IV, p. 241, 1896.

(3) J.-H. Kastle. — On the stability of the Oxydases and their conduct toward various reagents. *Bul. hygienic laboratory*, n° 26, pp. 7-22, 1906.

(4) Bourquelot et Bertrand. — Le bleuissement et le noircissement des champignons. *Soc. de Biologie*, p. 582, 28 juillet 1895.

(5) Bourquelot et Bertrand. — Sur la coloration des tissus et du suc de certains champignons au contact de l'air. *Bul. Soc. Mycol. de France*, t. XII, 1er f., p. 27, 1896, d'après la *Soc. Mycol. de France*, séance du 28 septembre 1895.

M. Gabriel Bertrand, de son côté (1), vit que le noircissement du champignon est dû à l'oxydation de la tyrosine. La laccase est sans action sur ce chromogène. M. G. Bertrand conclut à l'existence d'une nouvelle diastase et la nomma, en raison de son action spécifique sur la tyrosine, *tyrosinase* (2).

Il obtint même (3) la séparation des deux ferments en faisant agir la chaleur et l'alcool absolu sur les sucs de diverses Russules : (*Russula cyanoxantha* Schæff., *Russula delica* Fries ou *Russula fœtens* Persoon).

Le Professeur Bourquelot eut l'idée, pour séparer les actions fermentaires, de laisser vieillir les solutions (4). Il remarqua « que le suc de *Russula delica* frais possède la « propriété de bleuir la teinture de gaïac, celle de rougir le « gaïacol et celle de noircir la tyrosine, tandis que le *Russula* « *delica* ancien ne possède que les deux premières ». Il vit, de même (5), que les solutions chloroformées perdent, en vieillissant, une partie de leur pouvoir oxydant et que, partant, *elles renferment plusieurs ferments d'inégale stabilité.* C'est ainsi qu'il a préparé le 2 octobre 1896 (6) une solution chloroformée avec un mélange de diverses russules (*Russula delica*, *Russula furcata*, *Russula cyanoxantha*). Le 27 octobre, la solution bleuissait vivement le gaïac et rougissait le gaïacol; elle n'oxydait plus la tyrosine.

Le liquide agissait encore sur le naphtol α, le vératrol, la vératrylamine, le créosol, tandis qu'il était sans influence sur l'anisol, le phénétol, la vanilline. Son action sur l'eugénol et la saligénine était également modifiée.

(1) G. Bertrand. — Sur une nouvelle oxydase ou ferment soluble oxydant d'origine végétale. *Bul. soc. chim.* 3e série, n° 12, t. XV XVI, p. 793, 20 juin 1896.

(2) La spécificité de cette diastase fut d'ailleurs reconnue également en 1905 par Bach (Bach. Peroxydasen als specifische wirkende Enzymen. *Ber. d. D. chem. Ges.* t. XXXIX, p. 2726), qui avait étudié le ferment d'une autre Russule, le *Russula delica.*

(3) G. Bertrand.— Sur la séparation de la laccase et de la tyrosinase contenues dans le suc de certains champignons. *Bul. Soc. chim.*, 3e série, t. XV-XVI, n° 23, 5 décembre 1896 et *Ac. Sciences*, 14 septembre 1896.

(4) Bourquelot. Sur l'emploi du gaïacol comme réactif des ferments oxydants. *Soc. biol.*, n° 28, p. 896, 13 mars 1896.

(5) Bourquelot. Sur quelques propriétés des solutions aqueuses chloroformées du ferment oxydant des champignons et sur la durée de l'activité de ces solutions. *Soc. biol.*, n° 28, p. 893, 13 novembre 1896.

(6) *Loc. cit.*, p. 895.

M. Bourquelot (1) montra à quel point la diastase de M. G. Bertrand est répandue chez les champignons dont elle colore le chapeau.

L'étude de la tyrosinase fut, plus tard, reprise par plusieurs expérimentateurs. C'est ainsi que Gessard (2) détermina, comme le devait faire ultérieurement Bach (3), les actions empêchantes; M. V. H. Harlay (4) appliqua les propriétés spécifiques de ce ferment à l'étude des enzymes protéolytiques.

Chodat et Staub (5), G. Bertrand (6) et Rosenblatt (7), Em. Abderhalden et M. Guggenheim (8) observèrent le mode d'action de la tyrosinase contenue dans le *Russula delica* et les conditions accessoires du travail oxydasique. Théodore Weindl enfin (9) rechercha le rôle joué par cette diastase dans la production des pigments.

Ces travaux permettent d'admettre que le suc des champignons renferme deux ferments : la laccase et la tyrosinase. Le suc semble même plus complexe; aussi certains auteurs ont-ils cherché à en isoler des oxydases nouvelles. C'est ainsi que D. Carbone (10) prétend avoir extrait de l'*Armillaria mellea*,

(1) Bourquelot. Sur la présence générale, dans les champignons, d'un ferment oxydant agissant sur la tyrosine. Sur le mécanisme de la coloration du chapeau de ces végétaux. *Bull. soc. Mycol. de France*, t. XIII, p. 65, 1897.

(2) Gessard. Sur la tyrosinase. *Ac. Sciences*, pp. 1327-1330, 14 mai 1900 et *Ann. Inst. Pasteur*, t. XV, n° 8, pp. 593-614, 25 août 1901.

(3) Bach. Peroxydasen als specifisch wirkende Enzymen. *Ber. d. D. chem. Ges.*, t. XXXIX, p. 2126.

(4) V. H. Harlay. De l'application de la tyrosinase, ferment oxydant du *Russula delica*, à l'étude des ferments protéolytiques. *Thèse Ecole de Pharmacie*, Paris, 1900.

(5) Chodat et Staub. Nouvelles recherches sur les ferments oxydants. Sur le mode d'action de la tyrosinase. *Arch. des Sciences phys. et natur.*, n° 3, pp. 265-277, 1907.

(6) G. Bertrand Action de la tyrosinase sur quelques corps voisins de la tyrosine. *Ac. Sciences*, t. CXLV, pp. 1352-1355, 23 décembre 1907. *Id.* Recherches sur la mélanogénèse. Action de la tyrosinase sur la tyrosine. *An. Inst. Pasteur*, p. 381, 1908.

(7) Bertrand et Rosenblatt. Sur la façon dont la tyrosinase agit sur la tyrosine racémique. *An. Inst. Pasteur*, p. 425, 1908. — *Id.* Sur la température mortelle des tyrosinases végétales. *Ac. Sc.*, t. CL, 2 mai 1910, p. 1142.

(8) Em. Abderhalden et M. Guggenheim. Versuche ueber die Wirkung der Tyrosinase von R. D., auf Tyrosine, tyrosinhaltige Polypeptide und einige andere Verbindungen unter verschiedenen Bedingungen. *Zeitsch. f. physiol. Chem.*, t. LIV, p. 331, 1908. Rés. *Journ. Ph. et Chim.*, Vol XXVII, p. 448, 1908.

(9) Théodore Weindl. Pigmententstehung auf Grundvorgebildet Tyrosinase, *Arch. f. Entw. Mech.*, Bd XII, pp. 633-641.

(10) D. Carbone. Esperienze sulla specifità delle ossidasi. *Rassegna di Bacterio, opo e seroterapia dell'Istituto sieroterapico*, Milanese, 1907.

une oxydase spécifique agissant sur l'adrénaline. Bourquelot, d'ailleurs, avait déjà remarqué (1) que le ferment des champignons *oxyde l'adrénaline.*

Le chimiste italien a procédé ainsi : il a préparé un extrait de champignons dont il a constaté le pouvoir sur la tyrosinase et l'adrénaline. Il a fait ensuite agir à froid cet extrait (jusqu'à formation du précipité noir) sur une solution de tyrosine et a reconnu que le liquide filtré oxyde encore l'adrénaline.

M. J. Wolff (2), de même, assure avoir trouvé dans les macérations de Russule une oxydase nouvelle. Il lui a donné, en raison de l'action spécifique qu'elle exercerait sur l'orcine, le nom d'*orcinase.*

Il est donc probable que le suc des champignons renferme plusieurs oxydases spécifiques. Le Professeur Em. Bourquelot (3) admet implicitement cette hypothèse : « Peut-être l'oxydase qui agit sur la morphine, dit-il, en effet, est-elle un autre ferment (différent de la laccase et de la tyrosinase), une morphinase? »

IV. — Action du suc total de champignon.

Le suc est donc un complexe dont nous ne connaissons pas tous les facteurs. Aussi M. Bourquelot et ses élèves ont-ils trouvé logique d'étudier le pouvoir oxydant de ce liquide sans préjuger sa composition ou sa teneur en diastases. M. Bourquelot (4) a reconnu ainsi que la réaction (alcaline ou acide) du milieu favorise ou entrave, selon les substances employées, les phénomènes d'oxydation. Il a vu, en outre, que le suc total agit sur un grand nombre de substances (5), notamment sur les

(1) Bourquelot. *Journ. Ph. et Chim.*, p. 528, 1904.

(2) J. Wolff. Sur la spécificité des oxydases. *Ac. Sciences*, t. CXLIX, p 467, 1909.

(3) Em. Bourquelot. Sur un processus général d'oxydation par les ferments oxydants. *Journ Ph. et Chim.*, 1er août 1909.

(4) Bourquelot. Du ferment oxydant des champignons. Influence du milieu sur son activité. *Soc. biol.*, t. XLVIII, p. 825, 1896.

(5) Bourquelot. Action du ferment soluble oxydant des champignons sur les phénols insolubles dans l'eau. *Ac. Sciences*, t. CXXIII, p. 423, 1896 et *Journ. Ph. et Chim.*, t. IV, p. 241, 1896.

phénols, tant solubles qu'insolubles dans l'eau (xylénol, thymol, carvacrol, naphtol α et β) (1) et leur dérivés éthérés (2) (anisol, phénétol, gaïacol, acétylgaïacol, vératrol, créosol, eugénol, acétyleugénol, vanilline, acide vanillique).

Le gaïacol, notamment, donne une coloration rouge si franche, qu'il constitue un excellent réactif (3).

Le suc est, par contre, sans influence sur les alcools éthylique et méthylique, qui peuvent même entraver son activité.

Enfin, le liquide obtenu par le broyage de certaines espèces, telles que *Russula delica*, *Lactarius velutinus* Bert. (4), oxyde l'aniline, le sulfate d'aniline, le méthyl, l'ethyl et la diéthylaniline, les toluidines (méta et para) l'aniline pour rouge, la xylidine (ortho, méta et para), la naphtylamine, la vératrylamine.

V. — Nature de l'oxydation produite par les champignons.

Les premiers travaux relatifs à ce sujet remontent à 1902. Ils démontrent que cette oxydation, semblable à celle obtenue avec les oxydants de laboratoire, est le résultat de l'union de deux molécules avec élimination d'hydrogène.

C'est ainsi que M. Bougault (5), en soumettant la morphine à l'action oxydante de *Russula delica* Fr., a obtenu l'oxymorphine (ou pseudomorphine ou déhydrodimorphine). Il a vu que ce composé est formé par la soudure de deux molécules qui, après avoir éliminé un hydrogène de chaque noyau, se lient par des carbones.

(1) Ce fait fut d'ailleurs constaté également en 1905, par Bach (Bach. Peroxydasen als specifisch wirkende Enzyme. *Ber. d. D. chem. Ges.*, vol. XXXIX, p. 2216) avec la laccase de *Russula nigricans* et de *Psalliota campestris*

(2) Bourquelot. Nouvelles recherches sur le ferment oxydant des champignons, III, son action sur les dérivés éthérés des phénols. *Journ. Ph. et Chim.*, t. IV, p. 440, 1896.

(3) Em. Bourquelot Sur l'emploi du gaïacol comme réactif des ferments oxydants. *Soc. biol.*, n° 28, p. 896, 13 novembre 1896.

(4) Em. Bourquelot. Nouvelles recherches sur le ferment oxydant des champignons, II. Son action sur les amines aromatiques, *Journ. Ph. et Chim.*, t. V, p. 8, 1897.

(5) Bougault. Oxydation de la morphine par le suc de *Russula delica. Fr. Journ. Ph. et Chim.*, [6], t. XVI, p. 49, 1902.

L'année suivante, LERAT (1) a, de même, préparé, à l'aide de la vanilline, la déhydro-divanilline et G. BERTRAND (2) a établi que le produit de l'oxydation du gaïacol par la laccase est la tétragaïacoquinone. M. G Bertrand a retrouvé, dans ce corps, la soudure des carbones à la suite de l'élimination des hydrogènes.

MM. COUSIN et HÉRISSEY, quatre ans plus tard (3), ont transformé le thymol en dithymol (4). Ils ont également oxydé l'eugénol et l'isoeugénol (5) et ont obtenu ainsi le déhydrodieugénol et le déhydrodiisoeugénol.

MM. GABRIEL BERTRAND et V. I. MEYER ont repris récemment (6) l'étude de la pseudomorphine et ont expliqué les processus d'oxydation, par les oxydases, de certains composés phénoliques.

Les enzymes oxydants des champignons agissent donc sur un grand nombre de corps. Ils auraient même, d'après M. J. WOLFF (7), des propriétés plus générales ; on les découvrirait en employant un milieu *faiblement alcalin*. On pourrait, en se plaçant dans les conditions étudiées par l'auteur, oxyder les matières les plus diverses des règnes animal et végétal et certaines matières colorantes artificielles.

VI. — CHROMOGÈNES.

Les chimistes, en étudiant l'oxydation des nombreux corps que nous avons énumérés, les ont, dans le laboratoire, mis en contact avec les diastases. Dans la nature, au contraire, les fer-

(1) LERAT. Oxydation de la vanilline par le ferment oxydant des champignons. *Soc. biol.*, t. LV, p. 1325, 1903.

(2) G. BERTRAND. Sur l'oxydation du gaïacol par la laccase. *Ac. Sciences*, t. CXXXVII, p 1269, 1903.

(3) COUSIN et HÉRISSEY. Oxydation du thymol par le ferment oxydant des champignons. *Jour. Ph. et Chim.*, vol. XXVI, pp. 487-491, 1907 et *Soc. de Pharm.*, 6 novembre 1907.

(4) COUSIN et HÉRISSEY. Oxydation de l'eugénol par le ferment oxydant des champignons, *Journ. Ph. et Chim.*, t. XXVIII, p. 49, 1908 et *Soc. de Pharm.*, 6 mai, 1908.

(5) COUSIN et HÉRISSEY. Oxydation de l'isoeugénol. Sur le déhydrodiisoeugénol. *Journ. Ph. et Chim.* [6], vol. XXVIII, p. 193, 1908.

(6) GABRIEL BERTRAND et V. I. MEYER. Sur la pseudomorphine. *Ac. Sciences*, 21 juin 1909.

(7) J. WOLFF. Les macérations de champignons. *Ac. Sciences*, mars 1909.

ments agissent sur des substances spéciales, les chromogènes, dont l'oxydation détermine les changements de coloration couramment observés chez les champignons (*Boletus cyanescens*, *Russula nigricans*, etc).

Le Professeur Bourquelot et M. G. Bertrand (1) ont établi que les chromogènes, de leur nature incolores, prennent, en s'oxydant, une teinte variable suivant l'espèce. Pour les isoler (2), ces chimistes ont jeté un champignon noircissant dans l'alcool (à 95 p. 100) bouillant. Ils ont, de plus, lorsque les chromogènes sont insolubles dans ce liquide, décanté et repris le mélange par l'eau bouillante. Ils ont détruit ainsi la diastase et obtenu une solution presque incolore et prenant, par addition d'un ferment oxydant, une teinte plus ou moins foncée.

M. Gabriel Bertrand (3) appliqua, plus tard, cette technique au *Boletus cyanescens*. Il prépara ainsi le *bolétol* (4).

Ce chromogène est incolore. Il bleuit par oxydation. Il est stable et constitue, de ce fait, un réactif précieux des ferments oxydants.

Ajoutons enfin qu'oxydases et chromogènes ne coexistent pas toujours dans les mêmes espèces. Certaines Russules, par exemple, ne contiennent que des ferments. C'est ce qui a permis à MM. Bourquelot et Bertrand de provoquer diverses réactions colorées, sans être gênés par des changements de teinte spontanés.

VII. — Préparation des liqueurs oxydantes.

Le suc ou la macération aqueuse, lorsqu'ils sont frais, possèdent d'énergiques propriétés oxydantes ; mais ils deviennent rapidement la proie des fermentations microbiennes. Il faut donc

(1) Bourquelot et Bertrand. Le bleuissement et le noircissement des champignons. *Soc. biol.*, p. 582, 28 juillet 1895. — Bourquelot. Champignons : *Dictionnaire de Physiologie*, t. III, pp. 271-328.

(2) Bourquelot et Bertrand. Sur la coloration des tissus et du suc de certains champignons au contact de l'air. *Bull. soc. Mycol. de France*, 5 et 28 septembre 1895.

(3) G Bertrand. Sur le bleuissement de certains champignons du genre *Boletus*. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. XVI, pp. 179-184, 1902.

(4) G. Bertrand. Préparation du Bolétol. *Ac. Sciences*, CXXXIV, p. 124.

additionner les liquides d'antiseptiques, en ayant soin d'éviter ceux qui pourraient entraver l'action diastasique. C'est dans cette pensée que le Professeur Bourquelot (1) a préconisé le *chloroforme*. Cette substance, en effet, à la condition de les placer à l'abri de la lumière, dans des flacons noirs pleins, permet de conserver les liquides diastasiques pendant six semaines à deux mois.

M. G. Bertrand emploie une méthode analogue (2). Il plonge les champignons dans l'eau chloroformée ou l'éther lavé et détermine ainsi la séparation d'un liquide coloré doué d'énergiques propriétés oxydantes.

Les solutions chloroformées ne sont pas très stables, aussi est-il préférable de préparer des *macérations glycérinées*. Ce procédé, employé par le Professeur Ed. Schaer (3) pour le ferment oxydant du *Phytolacca decandra*, a été appliqué par le Professeur Bourquelot (4) à la conservation de l'oxydase des champignons.

Ce savant a eu le mérite de démontrer que ces macérations conservent plusieurs mois leurs propriétés, et constituent — la solution glycérinée de *Russula delica* notamment — de véritables *réactifs de laboratoire*.

La précipitation par l'alcool donne des produits moins actifs que les macérations. Préconisé en 1832 par Payen et Persoz pour la préparation de la « diastase », ce procédé a été utilisé en 1896 par M. Gabriel Bertrand et en 1902 par Chodat et Bach (5). Ces derniers ont préparé avec certains champignons (*Russula fœtens* Pers., *Lactarius vellereus* Fr. et *Russula delica* Vaill.) dont M. Bourquelot avait, dès 1896, démontré la puissance oxydante, une liqueur riche en ferment.

(1) Em. Bourquelot. La laccase dans les champignons. *Soc. biol.*, p. 579, 1895. — *Id.* Sur quelques propriétés des solutions aqueuses chloroformées de ferment oxydant et sur la durée de l'activité de ces solutions. *Soc. biol.*, n° 28, p. 893, 7 novembre 1896.

(2) G. Bertrand. Sur la séparation de la laccase et de la tyrosinase contenues dans le suc de certains champignons. *Bull Soc. chimique de Paris*, 3e série, n° 23, t. XV, XVI, p 1218, 5 décembre 1896.

(3) Ed. Schaer. *Vierteljahrschrift der Naturforschendengesellschafft in Zürich*, p. 233, 1896.

(4) Em. Bourquelot. Sur la durée d'activité des ferments oxydants en solution dans la glycérine. *Soc. biol.*, n° 16, p. 433, 8 mai 1897.

(5) Chodat et Bach. *Berliner Berichte*, vol. XXXV, p. 3143.

Cette méthode, d'après K. Aso (1) permettrait même de séparer les oxydases des autres enzymes. En effet, dit-il, si on ajoute au suc deux fois son volume d'alcool absolu, l'oxydase est complètement entrainée avec le précipité, alors que la plus grande partie des autres enzymes reste dans le filtrat.

VIII. — Réductases.

Les travaux sur les réductases des champignons sont peu nombreux. Schœnbein, nous l'avons vu, avait remarqué que les sucs du *Boletus luridus* Schaeff, et de l'*Agaricus sanguineus* décomposent l'eau oxygénée, mais il n'a donné de ce fait aucune interprétation.

Cette observation fut oubliée et, près d'un demi-siècle plus tard (1905), Hans Euler (2) signala que le suc pressé de *Boletus scaber* détruit l'eau oxygénée. La diastase catalysante, dit-il, conserve plusieurs jours son activité. Elle est, toutefois, moins stable que l'oxygénase contenue également dans le champignon. Elle se rapproche de la catalase β de Lœw, car les acides diminue sa puissance, qu'augmentent au contraire les traces d'alcali.

En 1909 enfin, J. Wolff (3) exposait en ces termes les résultats d'une expérience qui, d'après lui, prouve la présence de corps réducteurs chez les Russules :

« On divise, dit-il, en deux portions égales une solu-
« tion de cochenille décolorée par l'oxydase et on fait bouillir
« l'une qui, de ce fait, reprend sa couleur primitive... L'addi-
« tion à froid, dans les deux portions, d'une solution neutre
« d'acétate d'urane détermine, dans la cochenille régénérée,
« la formation d'une belle laque verte. Le même réactif ne
« produit rien avec la portion non régénérée. On peut expli-

(1) K. Aso. Sur les oxydants du corps des plantes. *Bull. of College of Agricult.* Tokio, vol. V. pp. 207-235.

(2) Hans Euler. Zur Kentniss der Katalasen. *Beitr. z. chem. Physiologie*, vol. VII, pp. 1-15, 1905.

(3) J. Wolff. Sur quelques propriétés nouvelles des oxydases de *Russula delica*. *Ac. Sciences*, p. 500, 22 février 1909.

« quer cette régénération de la cochenille oxydée par la pré-
« sence probable d'un corps réducteur dans la macération de
« Russule. »

Il existe donc des catalases dans les champignons ; mais jamais on n'a signalé dans ces végétaux de diastases hydrogénantes analogues à celles que J. de Rey Pailhade, puis Wroblewsky ont décelées dans la levure de bière.

II. — EXPÉRIENCES PERSONNELLES

Nous avons pris comme sujet d'expériences le *Psalliota* ou *Agaricus campestris*.

Ce champignon, à l'inverse des Russules non colorées, étudiées par MM. Em. Bourquelot et G. Bertrand, contient une grande quantité de chromogènes dont l'oxydation peut masquer les nuances délicates fournies par les réactifs.

Le but de ce travail est de rechercher dans le champignon :

1° Les oxydases *directes* ou *indirectes* (1);
2° Le chromogène ;
3° Les ferments réducteurs ;
4° Les coferments et les proferments.

I. — OXYDASES

Préparation des liqueurs oxydasiques.

Nous avons utilisé plusieurs procédés.

Pour les réactions délicates, nous avons exprimé le suc du champignon et obtenu ainsi un liquide brun rougeâtre, doué d'énergiques propriétés diastasiques.

Pour faire une *macération aqueuse*, nous avons broyé le champignon, laissé une heure la bouillie dans l'eau distillée froide et filtré le mélange. Nous avons employé le même poids

(1) Ces dénominations ont été créées par le Professeur Bourquelot. *Journ. Ph. et Chim.*, p. 426, 1897.

de champignon et d'eau. Nous avons ainsi obtenu un liquide teinté de rose et dont la couleur fonce progressivement et devient, au bout de vingt-quatre heures, brun havane.

Pour conserver les liquides, nous les avons additionnés *d'antiseptiques*, n'entravant pas l'action diastasique, tels que le fluorure de sodium à faibles doses (Arthus et Huber) (1).

Nous avons également employé les *macérations glycérinées* préconisées par le Professeur Bourquelot. La solution filtre lentement (il faut plusieurs heures), aussi obtient-on une liqueur presque noire.

Nous avons employé de même, mais avec peu de succès, le chloroforme.

Précipitation des ferments.

Ces préparations, sauf la macération aqueuse fraîche, ont l'inconvénient d'être foncées. La liqueur obtenue en traitant le suc de presse par l'alcool absolu et en dissolvant le précipité dans l'eau, est, au contraire, incolore. Mais la solution diastasique ainsi préparée, est peu active. Elle est instable et devient très vite la proie des micro-organismes. Le filtrat, de même que la partie insoluble du précipité, ne bleuissent pas le gaïac et renferment le chromogène oxydé.

Le sulfate d'ammoniaque à saturation donne des résultats inférieurs à ceux que fournit la précipitation alcoolique, car le sel est difficile à éliminer.

Réactifs.

Nous n'avons pas essayé tous les réactifs.

Nous avons choisi comme types :

1° *La teinture de résine de gaïac.*

Nous avons préparé (2) extemporanément un réactif ainsi formulé :

Résine de gaïac broyé.	1 gr.
Alcool absolu.	20 cmc.

Laisser reposer et décanter.

(1) Arthus et Huber. *Archives de Physiologie normale et pathologique*, t. IV, p. 651, 1892.

(2) Le Professeur Bourquelot a démontré que la teinture conservée renferme des peroxydes dont la présence peut fausser la recherche des oxydases directes.

Il prend, par oxydation, une belle teinte bleue ; il nous a donné des résultats meilleurs que les solutions chloroformiques recommandées par Schaer (1). Nous avons employé le réactif pur, ou émulsionné dans l'eau distillée.

2° *Le gaïacol* (ou éther monométylique de la pyrocatéchine). Nous avons fait, selon les conseils de M. Em. Bourquelot (2), une solution aqueuse de gaïacol cristallisé.

Elle prend, sous l'action des ferments oxydants, une belle teinte rouge orangé, puis précipite en grenat.

3° *Le phénol* en solution aqueuse alcalinisée avec du carbonate de soude.

4° *Le pyrogallol* en solution aqueuse à 1 p. 60.

Il donne, par oxydation une couleur rouge, puis un précipité qui se rapproche de la purpurogalline d'Aimé Girard.

5° *L'hydroquinone* en solution aqueuse à 1 p. 60.

Elle se transforme en quinone (couleur brun jaunâtre, odeur caractéristique) et fournit, lorsque l'oxydase est énergique, des lamelles vertes de quinhydrone.

6° *Les naphtols.*

Le naphtol α donne une coloration violette, puis un précipité bleu sale ; le naphtol β, un précipité blanc qui devient jaunâtre.

Nous avons employé :

Naphtol α ou β	0 gr. 50
Alcool absolu	25 cc.
Eau	100 cm.

7° *Le thymol.*

Il donne un trouble blanchâtre, puis un précipité blanc (3) de dithymol.

Nous avons utilisé, comme l'a fait M. Bourquelot (4), la solution suivante :

(1) Schær. Sur l'emploi de la teinture de gaïac comme réactif. *Apotheker Zg.*, p. 749, 1894 et *Journ. Ph. et Chim.*, t. I, p. 8[illegible], 1895.

(2) Bourquelot. Sur l'emploi du gaïacol comme réactif des ferments oxydants. *Soc. biol.*, t. XLVIII, p. 896, 13 novembre 1896.

(3) Cousin et Hérissey. Oxydation du thymol par le ferment oxydant des champignons. *Journ. Ph. et Chim.*, n° 487, 11 décembre 1907.

(4) Bourquelot. Action du ferment soluble oxydant des champignons sur les phénols insolubles dans l'eau. *Ac. Sciences*, p. 423, 1896.

Thymol	0 gr. 50
Alcool absolu	10 cc.
Eau	40 cc.
Solution de carbonate de soude à 2 p. 100.	5 cc.

8° *La tyrosine.*

Elle constitue, d'après M. G. Bertrand, un réactif spécifique de la tyrosinase.

Nous avons, comme M. Gessard (1), fait une solution de tyrosine à 0,05 0/0.

9° *La phénolphtaline.*

Elle a été préconisée par J. H. Kastle et O. M. Schedd (2). Nous l'avons obtenue, selon le procédé de Baeyer, en réduisant à froid, par la poudre de zinc, la phtaléine du phénol alcalinisée. La phtaline, incolore, reconstitue par oxydation (3) la phtaléine qui est rouge.

10° *Le paraphénylène diamine.*

Signalé par M. G. Bertrand (4), ce corps a été employé par Röhmann et Spitzer (5) pour caractériser les ferments oxydants animaux.

Nous avons fait une solution mère ainsi composée :

Paraphénylène diamine. . .	
Naphtol	âââ 1 gr. 40 à 1 gr. 50
Soude	
Eau	100 gr.

Nous avons dilué la solution dans l'eau distillée à 1 p. 50 ou à 1 p. 100 et obtenu un réactif qui donne une teinte violette virant au bleu.

Nous avons remplacé, dans cette formule, le naphtol par le thymol, et obtenu ainsi un réactif plus sensible.

(1) Gessard. Etudes sur la tyrosinase. *Ann. Inst. Pasteur*, n° 8, 25 août 1901.

(2) J.-H. Kastle et O.-M. Schedd. Phenolphtalin as a reagent for the oxydising ferments. *American Chemical Journ.*, t. XXVI, pp. 527-539.

(3) Baeyer. *Liebigs Annals*, t. CCII, p. 80.

(4) G. Bertrand. Sur les rapports qui existent entre la constitution chimique des composés organiques et leur oxydabilité sous l'influence de la laccase. *Bull. Soc. chim.*, n° 12, t. XV-XVI, p. 791, 20 juin 1896.

(5) Rohmann et Spitzer. Ueber Oxydationswirkungen thierischer Gewebe. *Ber. d. D. chem. Ges.*, XXVIII, p. 567.

Réactions.

1° *Le gaïac.*

Les champignons, coupés ou brisés, donnent, au contact de cette teinture, une coloration bleue intense (1). Ils renferment donc une oxydase directe de même nature que la laccase.

Le suc de presse agit de façon instantanée sur le gaïac, et donne parfois, au contact de ce réactif, un précipité.

Les macérations aqueuses fraîches colorent aussi le réactif, mais elles sont moins actives que le suc.

La solution glycérinée fraîche a de même oxydé le gaïac. La glycérine, pour ne pas empêcher la réaction, doit être suffisamment diluée. Nous avons, pour cette recherche, versé dans un tube :

Eau	1 cm3
Solution glycérinée	V gouttes
Teinture de gaïac	1 cm3

Il se forme un précipité blanc qui, au bout d'une demi-minute, devient bleu.

La solution obtenue par précipitation du ferment est moins active.

2° *Le gaïacol.*

Le suc du champignon rougit en trois ou quatre minutes le réactif.

Les solutions glycérinées mettent plusieurs jours à produire l'oxydation.

Les solutions aqueuses de ferment obtenues par précipitation alcoolique colorent à peine le réactif.

Nous voyons donc une différence entre les ferments du *Psalliota campestris* et ceux de *Russula delica* ;

3° *Le pyrogallol.*

Même remarque que pour le gaïacol ; mais l'action est encore moins marquée.

4° *Le phénol ordinaire.*

Le suc oxyde lentement le phénol neutralisé avec du car-

(1) Cette constatation est, d'ailleurs, en contradiction avec l'affirmation de Kastle et Schedd (Kastle et Schedd. Phenolphtalin as a reagent for the oxydising ferments. *American Chemical Journ.*, p. 526, décembre 1901 .

bonate de soude, et donne, au bout de plusieurs jours, une coloration brune (1).

5° *L'hydroquinone.*

Les liquides diastasiques, sauf les solutions obtenues par précipitation alcoolique, oxydent nettement l'hydroquinone. Ils donnent, en quarante-huit heures, des aiguilles vertes de quinhydrone.

6° *Le naphtol α et β.*

L'oxydation du naphtol α est assez rapide (quelques minutes); celle du naphtol β est plus lente.

7° *Le thymol.*

Oxydation assez lente.

8° *La tyrosine* (2).

Les solutions deviennent, sous l'action du ferment, successivement roses, jaunes, rougeâtres, acajou et presque noires.

Le suc des champignons et les macérations aqueuses concentrées mettent dix à douze heures, et les liquides glycérinés vingt-quatre à quarante-huit heures, à produire cette coloration.

Les solutions de ferment obtenues par la méthode de Payen et Persoz ont été inactives.

9° *La phénolphtaline.*

Ce réactif n'a pas été oxydé.

Nous avons fait, selon la méthode de Kastle et Schedd, le mélange suivant :

Liquide oxydasique.	5 cm3
Phtaléine.	1 cm3
Solution au 20e normale de lessive de soude (pour alcaliniser).	1 cm3

et reconnu qu'il reste incolore (3).

(1) L'oxydation du phénol par le *Psalliota campestris* a été observée en 1906, par Bach (Bach. Peroxydasen als specifisch wirkende Enzymen. *Ber. d. D chem. Ges.*, vol. XXXIX, p. 2126), qui attribue cette action à la présence d'une laccase.

(2) L'oxydation de la tyrosine par le *Psalliota campestris* avait été vue en 1897, par le Professeur Bourquelot (Em Bourquelot. Sur la présence générale dans les champignons d'un ferment soluble oxydant agissant sur la tyrosine. *Soc. Mycol. de France*, p. 65, 1897).

(3) Cette constatation concorde avec celle de Kastle et Schedd (Kastle et Schedd. Phenolphtalin ar a reagent for the oxydising ferments. *Amer. Chem. Journ.*, p. 526, décembre 1901), d'après laquelle l'*Agaricus campestris* ne colore pas la phénolphtaline.

10° *Le paraphénylène diamine.*

L'oxydation a été rapide et marquée.

Nous avons versé, dans 10 cm3 de réactif, trois ou quatre gouttes de solution fermentaire, et obtenu, après deux à trois minutes, une belle coloration due à la formation d'indophénol.

Action du ferment sur diverses substances.

Nous avons essayé, de plus, l'action du ferment sur :

1° *L'alcool.*

Nous avons employé l'alcool éthylique que nous avons étendu d'eau pour qu'il ne détruise pas l'oxydase.

Nous avons exactement neutralisé et abandonné plusieurs jours à lui-même le mélange suivant :

Eau	20 cm3
Alcool éthylique absolu	10 —
Solution de ferment	20 —
Teinture de tournesol (1)	V gouttes.

Nous n'avons observé aucun changement de coloration : il ne s'est donc pas formé d'acide acétique et le ferment est sans action sur l'alcool éthylique.

La diastase n'oxyde pas davantage l'alcool méthylique.

Ces résultats corroborent ceux que M. Bourquelot (2) a obtenus avec les Russules.

Nous avons d'ailleurs répété, pour le *Psalliota campestris*, l'expérience du Pr Bourquelot. Nous avons introduit dans un flacon de 250 cm3, le mélange suivant :

Eau	40 cm3
Alcool absolu	20 cc3
Solution de ferment	40 cc3

Nous avons fermé avec un bouchon traversé par un tube effilé et scellé à la lampe. Au bout de trois jours, nous avons

(1) Nous avons vérifié, au préalable, que le ferment est sans action sur le tournesol.

(2) Bourquelot. Action du ferment soluble oxydant des champignons sur les phénols insolubles dans l'eau. *Ac. Sciences*, t. CXXXIII, p. 423, 1896.

cassé la pointe sous l'eau et constaté qu'il n'y avait pas d'absorption.

L'expérience a été de même négative avec les alcools éthylique et méthylique.

Le *Psalliota campestris* ne renferme donc pas l'oxydase que F. Battelli et L. Stern (1) désignent sous le nom d'alcoolase.

2° *Le glucose.*

Contrairement aux faits observés par W. Spitzer (2) pour une oxydase animale (l'aldéhydase), le ferment des champignons n'agit pas sur le glucose. En effet, nous avons mis à l'étuve une macération de ces végétaux avec une solution de glucose et constaté, comme l'a prouvé le dosage avec la liqueur de Fehling, que la teneur en sucre du mélange reste constante.

3° *Substances azotées.*

Le *Psalliota* n'oxyde pas davantage l'urée. Nous avons, en effet, laissé plusieurs jours ce corps en contact avec les macérations glycérinées ou aqueuses fluorées. Nous avons, de temps à autre, fait des prélèvements de liquide et dosé l'urée par un hypochlorite alcalin. Nous avons ainsi reconnu que la teneur de la solution en carbamide demeurait constante.

4° *Substances albuminoïdes.*

Le champignon est, de même, sans action sur les matières albuminoïdes.

Nous avons laissé une macération glycérinée, ou aqueuse additionnée de fluorure de sodium, en contact avec de l'albumine étendue d'eau. Le mélange n'a donné à aucun moment les réactions des acides (benzoïque, acétique, formique), qui caractérisent l'oxydation lente de l'albumine (3).

Cette expérience, disons-le, n'a pas une valeur absolue, car nous n'avons pu, le plus souvent, empêcher la putréfaction de l'albumine.

(1) F. Batielli et L. Stern. L'alcoolase dans les tissus animaux. *Soc. biol*, t. LXVIII, pp. 419-427, octobre 1909.

(2) W. Spitzer. *Berliner Klinische Wochenschrift*, n° 42, 1894.

(3) Gückelberger a, en effet, démontré que l'oxydation ménagée des albuminoïdes donne naissance à de nombreux aldéhydes, à des acides (notamment benzoïque, acétique, formique) et à des nitrites.

5° *Le chlorhydrate de morphine.*

Nous avons répété l'expérience due à M. Bougault : elle a été négative.

Nous avons laissé en contact, pendant dix jours, dans un verre recouvert d'un morceau de papier, le mélange suivant :

Chlorhydrate de morphine	2 gr.
Eau distillée	50 cc
Macération glycérinée	100 cc

Nous n'avons pas trouvé d'oxymorphine.

Réactions du milieu.

Nous avons, pour toutes ces recherches, opéré en solution neutre. Nous n'avons pas étudié l'influence de la réaction du milieu sur l'oxydation. Ce sujet a, en effet, été traité par le Professeur Bourquelot en 1896 (1).

Il a été également étudié par M. G. Bertrand (2), puis par M. J. Wolff (3).

Actions empêchantes.

Les antiseptiques, le sublimé notamment, empêchent l'oxydation. Certains autres, tels que le fluorure de sodium à faibles doses, n'inhibent pas les réactions.

Nous n'avons pas examiné l'influence des sels minéraux et des substances organiques. Nous nous sommes borné à constater que la leucine empêche l'action de la tyrosinase sur la tyrosine (4).

Les sels des métaux lourds entravent également l'action oxydasique.

Les sulfates de soude et de magnésie, au contraire, n'inhibent pas l'influence de la macération aqueuse sur le gaïac.

(1) Bourquelot. Influence de la réaction du milieu sur l'activité du ferment oxydant des champignons. *Ac. Sciences*, p. 260, 1890. *Id.* Des composés oxydables sous l'influence du ferment oxydant des champignons. *Ac. Sciences*, p. 315, 1896.

(2) G. Bertrand. Influence des acides sur l'action de la laccase. *Ac. Sciences*, t. CXLV, pp. 340-345, juillet 1907.

(3) J.-C. Wolff. Sur quelques propriétés nouvelles des oxydases de *Russula delica*. *Ac. Sciences*, p. 500, 22 février 1909.

(4) Bach (Bach. Peroxydasen als specifisch wirkende Enzyme. *Ber. d. D. chem. Ges.*, vol. XXXIX, p. 2126. 1906) avait déjà remarqué ce fait et l'explique en admettant que la leucine est également oxydée.

Influence du vieillissement.

Nous avons préparé des solutions fermentaires et les avons laissé vieillir.

Nous avons constaté, fait déjà connu, qu'elles perdent rapidement leurs propriétés à l'air et à la lumière. Désireux d'obtenir des résultats comparables, nous avons mis les liquides à l'abri de l'air (flacons pleins bien bouchés) et de la lumière (armoire pleine, verres colorés).

Nous avons alors observé les faits suivants : les solutions perdent d'abord (2 premiers jours) leur action sur la tyrosine et ensuite (8 à 15 jours) sur le gaïacol, le thymol, le phénol, le pyrogallol, les naphtols. Le pouvoir d'oxydation sur l'hydroquinone nous a semblé plus durable. Nous n'avons, d'ailleurs, pas pu établir avec précision le temps nécessaire à la disparition de ces réactions.

Les liquides conservent pendant plusieurs semaines leur activité vis-à-vis du gaïac et du paraphénylène diamine. La réaction de l'indophénol a même parfois persisté alors que le gaïac ne réagissait plus.

Lorsqu'une réaction avait disparu, l'addition d'eau oxygénée, était impuissante à la faire reparaître.

Ce fait tend à démontrer que le végétal ne contient pas de peroxydases correspondant aux oxydases perdues. Les peroxydases sont en effet plus stables que les oxydases et doivent, en conséquence, subsister plus longtemps.

Le suc de champignons ou les macérations, additionnés de fluorure de sodium, nous ont donné les mêmes résultats.

Influence des écarts de température.

1° *Refroidissement.*

Il paralyse les actions diastasiques.

Cette méthode ne nous a pas donné de résultats concluants.

2° *Chauffage.*

Nous avons chauffé progressivement les solutions au bain-marie et les avons ensuite laissé refroidir. Nous avons fait les constatations suivantes :

a) Une température de 65 degrés, maintenue pendant dix à quinze minutes, a détruit l'action sur la tyrosine (1) ;

b) La même température, maintenue pendant vingt minutes, n'a pas empêché les autres réactions oxydasiques ;

c) Le chauffage à 75 degrés, continué pendant cinq ou dix minutes, a détruit l'activité du liquide vis-à-vis du gaïacol, des naphtols, du thymol, du phénol, du pyrogallol et de l'hydroquinone.

Nous n'avons pu déterminer, de façon précise, les limites thermiques de ces réactions ;

d) La coloration du gaïac et celle du paraphénylène diamine diminuent d'intensité au-dessus de 75 degrés.

e) Toutes les propriétés des solutions disparaissent à une température de 80 degrés, maintenus pendant quelques instants, et à plus forte raison, à l'ébullition.

Nous avons ajouté de l'eau oxygénée au liquide porté successivement à ces diverses températures et nous n'avons pas constaté de réactions : *le champignon ne renferme donc pas d'oxydases indirectes.*

Nous avons tenté, sans y réussir d'une manière précise, de fixer la température optimum de chaque réaction. Les réactions du gaïac, du gaïacol, de l'hydroquinone, du phénol et du paraphénylène diamine nous ont semblé avoir leur optimum vers 40 ou 45 degrés (2).

La température la plus favorable à l'oxydation de la tyrosine nous a paru être de 30 à 35 degrés (2).

*
* *

Nous estimons donc que le suc de champignons *contient plusieurs oxydases*. C'est à cette conclusion qu'est arrivé le

(1) Ce fait a été également reconnu par M. G. Bertrand (G. Bertrand. Sur la séparation de la laccase et de la tyrosinase contenues dans le suc de certains champignons. *Bull. Soc. chim.*, n° 23, t. XV-XVI, p. 1216, 5 décembre 1896) pour *Russula fœtens* Persoon et *Russula cyanoxantha* Schœff. et en même temps que nous par Bertrand et Rosenblatt (Sur la température mortelle des tyrosinases végétales. *Ac. Sciences*, t. CL, 2 mai 1910, p. 1142) pour la tyrosinase du *Psalliota campestris*. Bach (Peroxydasen als specifisch wirkenden Enzymen. *Ber. d. D. chem. Ges.*, vol. XXXIX, p. 2126) donne, pour l'oxydase du *Russula nigricans*, un chiffre du même genre (61 à 66 degrés).

(2) Bach (Bach. Peroxydasen als specifisch wirkende Enzymen. *Ber. d. D. chem. Ges.*, vol. XXXIX, p. 2126), est arrivé à des résultats un peu différents avec la tyrosinase du *Russula nigricans*. Il dit que l'activité du ferment augmente de 0 à 50 degrés.

Professeur Emile Bourquelot (1), lorsqu'il dit : « Rien ne prouve « qu'il n'existe que deux ferments oxydants : la laccase et la « tyrosinase ; les faits connus permettent de supposer qu'il en « existe davantage. »

Cette opinion est d'ailleurs corroborée par le fait qu'il existe plusieurs oxydases animales.

Il nous paraît donc vraisemblable que le champignon renferme :

1° Un ferment (du type laccase), thermostabile, agissant sur le gaïac, mais se différenciant de cette diastase par le fait qu'il agit mal sur le pyrogallol ;

2° Une tyrosinase thermolabile ;

3° Un ferment capable d'agir sur le paraphénylène diamine. Mais l'existence de ce ferment est contestable, puisque le réactif est, d'après M. G. Bertrand, oxydé par la laccase. Un fait, pourtant, milite en faveur d'une troisième diastase ; c'est que le ferment animal de MM. Röhmann et Spitzer (2), tout en respectant le gaïac, agit sur le paraphénylène diamine.

Peut-on séparer ces ferments ?

Nous nous sommes servi du procédé de M. G. Bertrand (3), pour séparer la laccase de la tyrosinase.

Cette méthode qui consiste à utiliser « le contact de l'alcool et l'action ménagée de la chaleur », ne nous a pas donné de résultats satisfaisants, le champignon ne contenant pas une quantité suffisante de tyrosinase.

Les précipitations fractionnées par divers sels solubles alcalins ou alcalino-terreux (sulfate de magnésie, sulfate d'ammoniaque) à divers degrés de concentration ont été de même inefficaces.

(1) Em. Bourquelot. Sur un processus général d'oxydation par les ferments oxydants. *Journ. Ph. et Chim.*, 1er août 1909.

(2) Rohmann et Spitzer. Ueber Oxydationswirkungen thierischer Gewebe. *Ber. d. D. chem Ges.*, t. XXVIII, p. 567, 1895.

(3) G. Bertran ». Sur la séparation de la laccase et de la tyrosinase contenues dans le suc de certains champignons. *Bull. Soc. chim.*, n° 2-3, t. XV-XVI, pp. 12-18, 1896

Répartition des ferments oxydants dans les diverses parties du champignon.

Elle est difficile à établir parce qu'il n'est pas possible de doser, de façon précise, les oxydases.

Il existe, on le sait, deux procédés également approximatifs.

Le premier consiste à mesurer l'oxygène absorbé.

Le second est basé sur une évaluation colorimétrique ; c'est la méthode que nous avons employée en utilisant le gaïac. La laccase, en effet, nous a semblé être le ferment le plus actif du champignon.

Nous avons procédé ainsi :

Nous avons préparé un réactif type, en ayant soin de prendre toujours le même poids de tissu végétal (1 gr.), que nous avons broyé et fait macérer pendant le même espace de temps (1 heure), dans un volume d'eau constant et assez considérable (20 cm.), de façon à rendre plus nette la gamme des couleurs. Nous avons comparé les colorations obtenues avec celles que donnent 20 cm. de la macération suivante :

Champignon total broyé	N grammes
Eau	20 N grammes

Laisser une heure en contact.

Malgré l'imprécision de cette méthode, nous avons constaté que l'oxydase n'est pas répartie d'une façon absolument égale dans les diverses parties du champignon. Le chapeau et en particulier, les lames, sont moins riches en ferment que le pied.

Coferment

Son existence est probable, comme semble le démontrer cette expérience.

Une solution glycérinée datant de trois mois (10 décembre 1909, et l'expérience était du 22 février 1910) ne donnait pas la réaction du gaïac. Le mélange

Eau	2cm3
Solution glycérinée	X gouttes
Gaïac.	2cm3

était devenu à peine grisâtre après quinze minutes. Nous l'avons divisé en deux parties : A et B.

L'addition à A, de 1 cmc. de macération aqueuse fraîche et bouillie détermina, au bout de dix minutes, une coloration bleue, alors que la teinte B servant de témoin était à peine modifiée pendant ce laps de temps. Le liquide de champignons possède donc des éléments inaltérables à la chaleur, mais détruits par le temps.

Proferment

Certains auteurs, Woods (1) et K. Aso, en particulier (2), disent avoir constaté le fait suivant au sujet de l'oxydase du tabac : le jus de cette plante perd à l'ébullition ses propriétés oxydantes, mais les récupère au bout de quatre heures. Porté de nouveau à cent degrés, il est privé définitivement de son pouvoir oxydant. Ces chimistes concluent de ces faits, qu'il existe un zymogène : le proferment engendrerait l'oxydase et résisterait, mieux qu'elle ne le fait, à la chaleur.

Nous n'avons constaté aucun fait semblable avec le *Psalliota campestris* qui ne semble donc pas renfermer de zymogène.

Chromogènes

Pour isoler ces substances, nous avons introduit les champignons *entiers*, et sans eau, dans un ballon. Nous avons placé le récipient dans l'autoclave et chauffé pendant cinq minutes à 105 degrés, de façon à détruire les ferments.

Nous avons, après cette opération préliminaire, employé divers procédés :

1° Nous avons écrasé le champignon dans une presse et constaté que le suc :

a) noircissait par addition de I à II gouttes de solution diastasique ;

b) restait incolore en présence de la même solution bouillie.

Ce procédé a un inconvénient : le suc ne se conserve pas.

2° Nous avons broyé le végétal avec du sable et de la glycé-

(1) Woods. U. S department of agricultur. *Bul.* n° 18, p. 17.

(2) K. Aso. Sur les enzymes oxydants du corps des plantes. *Bull. of College of agric.* Tokio, vol. V, pp. 207-235.

rine, comme pour une macération glycérinée, et filtré. Les solutions ainsi obtenues réagissaient sous l'influence des oxydases, mais noircissaient spontanément au bout de quelques jours. Elles constituaient un réactif moins sensible que le suc.

3° Nous avons utilisé de même le procédé de M. Bourquelot. Cette méthode consiste à jeter les champignons dans l'alcool bouillant et à reprendre ensuite par l'eau. Nous avons constaté que ces deux opérations successives privent complètement les champignons de leur chromogène; leur surface, en effet, ne brunit plus si on l'arrose de quelques gouttes de solution fermentaire. Remarquons que cette technique a donné une solution de chromogène beaucoup moins sensible que le suc de presse.

II. — RÉDUCTASES

Le champignon renferme-t-il des catalases ?

Le suc de champignon et la macération aqueuse *fraîche* décomposent énergiquement l'eau oxygénée. Si l'on met dans un tube à essai 3 à 4 cmc. d'eau oxygénée et 1 cmc. de macération, la mousse devient abondante au point de déborder. Le suc bouilli est sans action sur l'eau oxygénée. Le champignon contient donc une catalase.

L'eau oxygénée est en général acide, aussi faut-il avoir soin de la neutraliser exactement avec de l'eau de chaux filtrée, car, ainsi que nous le verrons plus loin, la moindre trace d'acide inhibe l'action de la catalase.

Il faut éviter d'employer, pour cette expérience, les macérations glycérinées ; leur viscosité gênerait, en effet, le dégagement gazeux. Elles sont au reste inutiles, car la tacalase s'altère rapidement.

Action du vieillissement.

La catalase est si instable que le suc ou la macération abandonnés à eux-mêmes, surtout dans un flacon en vidange, ont perdu, au bout de 12 à 24 heures, la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène.

Nos conclusions diffèrent donc de celles de Hans Euler, d'après lequel le ferment du *Boletus scaber* (1) garderait pen-

(1) Hans Euler. Zür Kenntniss der Katalasén. *Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol.*, vol. VII, pp. 1-15.

dant plusieurs jours son activité. Elles contredisent de même l'opinion de Lœw qui affirme avoir vu le tabac, desséché dans un herbier, conserver sa catalase pendant plusieurs années.

Action de la température.

La catalase est sensible au *froid*; la congélation prolongée la détruit.

Le ferment est, de même, sensible à la chaleur. Il est altéré vers 50 à 55 degrés, détruit vers 75 degrés et, à plus forte raison, à l'ébullition. Cette constatation corrobore celle de Loew (1), d'après lequel la température mortelle de la catalase serait de 72 à 75 degrés.

Nos résultats diffèrent quelque peu de ceux de M. Lépinois qui dit, à propos de la décomposition de l'eau oxygénée par la catalase : « Une température de 70 degrés diminue notable-« ment la quantité de gaz mis en liberté et l'ébullition fait « perdre à peu près complètement cette propriété. »

La température optimum nous a paru voisine de 35 degrés. Lœw dit avoir observé 40 degrés pour la catalase du tabac.

Nous avons évalué le pouvoir catalysant de la macération et du suc en mesurant le volume d'oxygène que dégageaient ces liquides, dans un temps donné, en contact d'une eau oxygénée titrée et dont la teneur en oxygène était constante. Nous parlons plus loin de ce procédé recommandé par M. Lépinois.

Actions empêchantes.

La moindre trace d'acide inhibe l'action de la catalase du *Psalliota campestris*.

Lorsque le contact des acides ne dure pas trop longtemps, la neutralisation de la liqueur rend à la catalase ses propriétés. Lorsqu'il est prolongé, le ferment est détruit. Cet effet n'est pas dû au temps, car une macération perd ses propriétés catalytiques plus vite, quand elle est acide, que lorsqu'elle est neutre ou faiblement alcaline.

Les sulfates de soude ou de magnésie sont, Lœw l'avait déjà remarqué, sans action sur le ferment. Il en est de même de

(1) Loew. A new enzyme of general occurence. *Washington Bull. of U. S. Department of agricultur*, 1900.

l'alcool absolu à la température ordinaire, à moins que le contact ne soit trop prolongé.

A l'inverse de l'opinion de Lœw, nous avons constaté que l'alcool bouillant détruit la catalase.

Les sels des métaux lourds, et en particulier le sublimé, annihilent l'activité de ce ferment, comme l'avaient déjà reconnu Lœw, Issajew (1), et H. W. Peters et H. W. Stewart (2). L'hydrogène sulfuré, les antiseptiques, le formaldéhyde notamment, retardent son action.

Actions activantes.

S. P. Lörensen (3) dit que l'optimum de la catalase est voisin de la neutralité. Nous estimons, pour notre part, qu'une réaction *légèrement alcaline* favorise l'activité de la catalase. Ce fait a, d'ailleurs, été observé par Hans Euler avec la catalase du *Boletus scaber* (4).

Enfin, le fait d'agiter le liquide, comme l'a constaté Lœw, active la décomposition fermentaire de l'eau oxygénée.

Expérience de Lœw.

Nous avons répété sur le *Psallotia campestris* l'expérience de Lœw. Nous avons versé dans 10 cmc. d'eau oxygénée, de la catalase en excès (100 cmc.). Au bout de quatre heures, toute trace d'eau oxygénée avait disparu. En effet, l'addition au liquide de quelques gouttes d'acide chromique au centième, ou de I à II gouttes de sulfate ferreux et de teinture de gaïac, ne déterminait plus la coloration bleue caractéristique de l'eau oxygénée.

Mesure de l'action de la catalase.

Nous avons aussi employé le procédé suivant, imaginé par Lépinois (5).

(1) Issajew. Sur la catalase de la levure. *Zeitschrift. f. physiol. Chem.*, t. XLII, p. 102, 1904 et *Journ. Ph. et Chim.*, p. 280, 16 septembre 1904.

(2) A. W. Peters et H. W. Stewart. The absorption and partial purification of catalase from liver. *Journ. of biol. Chem.*, t. VI, p. XXX, mai 1909.

(3) S. P. Lorensen. Enzymstudien II Mittheilung ueber die Messung und die Bedeutung die Wasserstoffionenkonzentration bei den enzymatischen Processen. *Bioch. Zeitsch.*, t. XXI, pp. 131-304, 27 septembre et 9 octobre 1909.

(4) Hans Euler. Zür Kenntniss der Katalasen. *Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol.*, vol. VII, pp. 1-15.

(5) Lépinois. Etude historique, chimique et pharmacologique sur les principales préparations organothérapiques; Thèse, *Ecole de Pharm.*, Paris, 1899.

Nous avons titré l'eau oxygénée au moyen du bioxyde de manganèse ou de permanganate de potasse ; et placé cette eau oxygénée neutralisée dans un uréomètre d'Yvon. Nous avons introduit dans l'appareil 2 cmc. de liquide catalasique préparé avec un poids égal d'eau et de champignons et avons estimé :

1° Le volume d'oxygène dégagé par la catalase ;

2° Le temps nécessaire pour la destruction de toute l'eau oxygénée ;

3° Les actions activantes et empêchantes (1).

Nous avons aussi, comme l'a fait Hans Euler (2), mis le suc en contact, un temps donné, avec l'eau oxygénée et dosé le reliquat du réactif.

Pour éviter les pertes dûes à la dissolution de l'oxygène, nous avons, suivant la technique de M. Lépinois, mesuré les volumes gazeux sur une solution saturée de chlorure de sodium. Nous avons, en outre, ramené les volumes à zéro degré, à la pression de 760 millimètres.

Action de la catalase sur les sels oxygénés et les réactifs.

L'eau oxygénée est un réactif un peu « vague » ; un grand nombre des substances, telles que les métaux pulvérulents et colloïdaux la décomposent.

La catalyse de l'eau oxygénée n'est donc pas une réaction spécifique.

Nous avons tenté d'autres réactions. Elles sont assez délicates. Il faut :

1° Employer, pour préparer les réactifs, de l'eau bouillie, c'est-à-dire privée d'air ;

2° Verser les liquides en expérience dans un tube à essai et les recouvrir d'une couche épaisse de paraffine ;

3° Avoir soin, pendant l'opération, de laisser le tube dans l'eau froide, afin que la paraffine se solidifie vite et n'échauffe pas le liquide.

On pourrait aussi, comme l'ont fait Abelous et Aloy (3), faire le vide, pour éviter tout contact avec l'oxygène.

(1) Voir pages 32 et 33.

(2) Hans Euler. Zür Kenntniss der Katalasen. *Beitr. z. chem. Physiol.*, t. VII, pp. 1-15, 1905.

(3) Abelous et Aloy. Existence, chez les végétaux, d'un ferment soluble réduisant les nitrates. *Soc. biol.*, t. LV, p. 1080, 31 juillet 1903.

Voici les expériences que nous avons faites :

Réduction du bleu de méthylène.

Cette réaction a été employée pour les catalases du lait, par Schardinger et Smidt, par E. Cathcart (1) par E. Seligmann (2) et Chr. Barthel (3). Ce dernier indique le réactif suivant qui est décoloré par les réductases :

Solution alcoolique saturée de bleu de méthylène.	5 cm³
Acide formique (pour empêcher les fermentations).	5 —
Eau.	190 —

Verser dans un tube 10 cm³ du liquide à essayer et 5 cmc. de réactif. Recouvrir de paraffine et laisser environ une heure au bain-marie à 40 degrés.

La catalase du *Psalliota campestris* a décoloré, en deux à quatre jours, cette solution.

Nous avons fait une expérience de contrôle, avec du suc bouilli, et constaté que le réactif restait coloré.

Nous avons tenté un autre essai avec du lait de vache frais qui, d'après les travaux de Sarthou, Barthel, Cathcart, etc., est riche en ferments réducteurs. Nous avons reconnu que le suc de champignon décolore, plus rapidement que le lait, le réactif de Barthel. *Les champignons renferment donc des ferments réducteurs plus actifs ou plus abondants que le lait.*

2° *Réduction des nitrates alcalins.*

La catalase réduit, lentement il est vrai (il faut plusieurs jours), les azotates de potassium et de sodium.

3° *Réduction des arséniates.*

Nous avons mis en contact quelques centigrammes d'arséniate de soude avec une solution de catalase. Nous avons placé le mélange dans l'étuve à 35 degrés et constaté que la liqueur, au bout de deux à quatre jours, précipitait en jaune avec le nitrate d'argent (réaction caractéristique des arséniates). Faisons remarquer que ces expériences n'ont qu'une valeur relative, car il est parfois difficile d'empêcher l'invasion du liquide par les microbes.

(1) E. Cathcart. Upon the reduction of methylene blue by cows'milk. *Journ. of hyg.*, t. IV, p. 300, 9 août 1906.

(2) E. Seligmann. Ueber di Reduktasen der Kuhmilch. *Zeitschr. f. Hygiene*, t. LII, f. 2, p. 161, 2 février 1906.

(3) Chr. Barthel. Sur la valeur de l'épreuve de la catalase. *Rev. génér. du lait*, t. VII. pp. 25-33, 15 juillet 1908 et pp. 49-56, 25 juillet 1908.

Séparation de la catalase.

Nous avons tenté d'isoler la catalase, mais nous ne sommes pas arrivés à des résultats satisfaisants.

En effet :

1° *La précipitation du suc par l'alcool* a entraîné les catalases avec les oxydases ; mais le précipité repris par l'eau décomposait à peine l'eau oxygénée ;

2° *La précipitation de la macération aqueuse par l'acide tannique* ne nous a pas donné de bons résultats ;

3° *La précipitation de la macération aqueuse par l'acide phosphotungstique* a entraîné, avec les substances albuminoïdes, tous les ferments oxydants et réducteurs. Le filtrat, en effet, était sans action sur le gaïac et l'eau oxygénée ;

4° *La précipitation par le phosphate de zinc* a été employée par A. W. Peters et H. W. Stewart (1). Cette méthode consiste à traiter le liquide catalasique par du phosphate de soude, puis du sulfate de zinc. Le précipité de phosphate de zinc produit entraîne la catalase. On peut opérer plusieurs précipitations successives.

Il faut avoir soin, si l'on emploie le phosphate neutre, de neutraliser le liquide à l'aide de chaux.

Il suffit ensuite de laver le précipité et de le dissoudre dans l'eau distillée pour obtenir une solution active.

Ce procédé nous a permis, dans une certaine mesure, de séparer les ferments oxydants des diastases réductrices.

En effet, le précipité décomposait l'eau oxygénée (assez faiblement) et n'agissait pas sur le gaïac, seul ou additionné d'eau oxygénée. Le filtrat ne catalysait pas l'eau oxygénée et oxydait assez lentement le gaïac.

Existe-t-il plusieurs catalases ?

Lœw distingue deux catalases : la forme β, soluble et la forme α, insoluble dans l'eau. On obtient α en traitant β par le carbonate de sodium.

Nous n'avons pas constaté cette dualité du ferment réducteur.

(1) A. W. Peters et H. W. Stewart. The absorption and partial purification of catalase from liver. *Journ. of. Biol. Chem.*, t. VI, p. XXX, mai 1909.

Nous n'avons pas davantage pu, comme l'avait fait Van Italllie (1) pour les catalases du sang des animaux, observer deux ferments, l'un thermostabile et l'autre thermolabile.

Le champignon renferme-t-il une hydrogénase ?

Nous avons, pour le savoir, répété l'expérience de Rey Pailhade. Nous avons fixé à un bouchon un papier imbibé d'acétate ou de carbonate de plomb, et versé dans le tube la macération ou le suc additionné de *soufre* en fleur. Le papier n'a pas noirci. Le liquide de champignon n'a donc pas formé, en présence de soufre, de l'hydrogène sulfuré.

Nous avons aussi broyé des champignons, placé la bouillie en contact avec du soufre, dans un flacon fermé. Au bout de quarante-huit heures, le papier de plomb n'avait pas noirci. Le champignon n'a pas davantage donné d'hydrogène sulfuré avec l'*hyposulfite de soude*, que A. Maassen (2) considère comme un bon réactif des substances hydrogénantes.

Les champignons broyés, ou leur suc, ont été de même sans action sur le *brome* et sur l'*iode*. On sait que les catalases des tissus, d'après Rey Pailhade, et celles de la levure, selon Wroblewsky, donnent au contraire, avec ces substances, les acides bromhydrique et iodhydrique.

Nous pouvons donc conclure que *la catalase des champignons ne possède aucune action hydrogénante.*

Répartition des ferments réducteurs dans les diverses parties du champignon.

Nous avons pris un poids fixe de la partie du champignon que nous voulions étudier. Nous avons fait macérer le tissu dans l'eau, mélangé la solution ainsi obtenue avec de l'eau oxygénée et mesuré l'oxygène dégagé. Nous avons répété l'opération pour le végétal entier et comparé les volumes gazeux obtenus. Nous avons constaté ainsi que la catalase est également répartie dans les divers organes du champignon.

(1) Van Italllie. Distinction des liquides albumineux provenant de divers animaux. *Soc. biol.*, t. LX, pp. 148-152, 26 janvier 1910.

(2) A. Maassen. Ueber das Reduktionsvermögen der Bakterien und ueber reduzierende Stoffe in pflanzlichen und thierischen Zellen. *Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte*, t. XXI, 3e section, pp. 377-384, 1904.

Coferment. Nous avons constaté qu'une macération aqueuse de vingt-quatre ou quarante-huit heures, qui a perdu son pouvoir catalytique, ne le reprend pas par addition de suc bouilli. Le catalase, à l'inverse des oxydases, n'aurait donc pas de coferment.

Proferment. La diastase réductrice ne possède pas davantage de zymogène, car, nous l'avons reconnu, le suc bouilli ne récupère à aucun moment ses propriétés catalytiques.

Conclusions.

Le *Psalliota campestris* renferme des oxydases.

Le suc, en effet, oxyde de nombreuses substances : le gaïac, le gaïacol, le pyrogallol, le phénol, l'hydroquinone, les naphtols, le thymol, la tyrosine et le paraphénylène diamine.

Le vieillissement et la chaleur lui font perdre, en partie, ses propriétés oxydantes. Le champignon paraît donc renfermer trois ferments d'inégale stabilité :

1° Un ferment analogue à la laccase, mais différant de cette diastase en ce qu'il oxyde mal le pyrogallol ;

2° Un ferment correspondant à celui qu'ont extrait Röhmann et Spitzer des tissus animaux ;

3° Une diastase analogue à la tyrosinase de Gabriel Bertrand.

Le champignon possède, en outre, des coferments pour les oxydases. Il ne recèle point de proferment.

Il contient enfin une catalase. Le ferment décompose énergiquement l'eau oxygénée ; il est capable d'exercer des actions réductrices (réduction du bleu de méthylène, des nitrates et des arséniates alcalins), mais ne possède aucun pouvoir hydrogénant.

Le champignon ne paraît pas renfermer de coferment ni de proferment pour la catalase.

TABLE DES MATIÈRES

HISTORIQUE

Pages.

I. — Travaux antérieurs à la découverte des ferments oxydants. 5
II. — Les ferments oxydants dans les champignons. 7
III. — Pluralité des ferments oxydants contenus dans les champignons 8
IV. — Action du suc total. 11
V. — Nature de l'oxydation produite par les champignons . . 12
VI. — Chromogènes 13
VII. — Préparations des liqueurs oxydantes. 14
VIII. — Réductases. 16

PARTIE EXPÉRIMENTALE

I. — Oxydases. 17

Préparations des liqueurs oxydasiques. 17
Réactifs 18
Réactions 21
Action du ferment sur diverses substances. 23
Réaction du milieu. 25
Influence du vieillissement. 26
Influence des écarts de température. 26
Peut-on séparer les ferments?. 28
Répartition des ferments oxydants dans les diverses parties du champignon 29
Coferment 29
Proferment. 30
Chromogènes 30

II. — Réductases. 31

Action du vieillissement. 31
Action de la température 32
Actions empêchantes. 32
Actions activantes 33
Mesure de l'action de la catalase. 33
Action de la catalase sur les sels oxygénés et les réactifs. 34
Séparation de la catalase. 36
Existe-t-il plusieurs catalases?. 36
Le champignon renferme-t-il une hydrogénase?. 37
Répartition des ferments réducteurs dans les diverses parties du champignon 37
Coferment 38
Proferment 38
Conclusions 38

PARIS. — IMPRIMERIE LEVÉ, 71, RUE DE RENNES.

PARIS. — IMP. LEVÉ 71, RUE DE RENNES